Research on Medicine Original Article

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences Vol.39; No.1; 2015

Effects of treatment with chitin micro-particles on *Leishmania Major* burden in Balb/c mice by using titration method

Mostafa Haji Molla Hoseini[1*], Somayeh Ghotloo[1], Vahid Khazee shahgoli[2]

1. Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Immunology Department, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

(Received: 2015/5/13 Accept: 2015/10/4)

Abstract

Background: *Chitin micro-particles have the ability to modulate immune responses. In order to investigate immunoadjuvant potential of chitin, the parasite burden in Balb/c mice infected with Leishmania the Major under treatment with chitin microparticles was evaluated. In measuring the parasitic load, titration method, which is the most accurate assessment of the effectiveness of therapies and vaccine evaluation in experimental models of Leishmania infection was used.*

Methods: *Balb/c mice were intradermally infected with 2 × 10^5 stationary phase of Leishmania Major promastigotes into their base of the tail and eight weeks later, parasite burden were measured and compared between test (6 mice/group) that recived 100 µg/ml microparticle subcutaneously at the base of the tail every two days and control groups (6 mice/group) that received PBS. The onset and size of ulcer among two groups were compared as well.*

Results: *Onset of ulcers in the treated mice compared to control showed a significant delay ($p<0.02$) and the lesion development in the micro-particle recipient mice were significantly smaller. Although the parasite load in treated mice was lower but statistically significant differences were not found between the test group and control ($p<0.88$).*

Conclusion: *The combined use of monitoring the size of the cutaneous lesions and the determination of the parasite burden will reflect more accurately the status of disease. Although the removal of the viseralized parasite was not found among chitin trated group, but onset and size of ulcer was impressed. Immunoadjuvant effects of chitin microparticles in Leishmania infection models requires further studies.*

Keywords: *Chitin; Leishmania major; Parasite burden*

* *Corresponding authors: Mostafa Haji Molla Hoseini, Department of Immunology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
Email: m.mollahoseini@sbmu.ac.ir or hajimolahoseini@yahoo. com

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

پژوهش در پزشکی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
مقاله پژوهشی
دور۳۹، شماره ۱، ۱۳۹٤، صفحات ٤ تا ۸

بررسی اثر تیمار با میکروپارتیکل‌های کیتین بر بار انگلی لیشمانیا ماژور در موش‌های Balb/c به روش تهیه رقت‌های متوالی

مصطفی حاجی ملاحسینی*[1]، سمیه قتلو رابری[1]، وحید خاضع شاهگلی[2]

۱. گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲. آزمایشگاه بخش ایمونولوژی انیستیتو پاستور ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۲/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۷/۱۲

چکیده

سابقه و هدف: میکرو پارتیکل‌های کیتین قابلیت تعدیل پاسخ‌های ایمنی را دارند. به منظور بررسی قابلیت ایمونوادجوانتی کیتین در عفونت با لیشمانیا ماژور، میزان بار انگلی در موش‌های *Balb/c* آلوده به لیشمانیا ماژور و تحت تیمار با میکروپارتیکل‌های کیتین ارزیابی شد. در اندازه گیری بار انگلی از روش تهیه رقت‌های متوالی که دقیق‌ترین ارزیابی اثربخشی روش‌های درمانی و ارزیابی واکسیناسیون در مدل تجربی عفونت لیشمانیاست، استفاده شد.

روش بررسی: موش‌های *Balb/c* با 2×10^5 پروماستیگوت انگل لیشمانیا ماژور در فاز ایستایی، در قاعده دم و به طریقه داخل جلدی آلوده شدند و پس از هشت هفته با استفاده از روش تیتراسیون سلولی، میزان بار انگلی در گروه تحت تیمار (شش سر موش) که به‌صورت دو روز در میان *100 µg/ml* میکروپارتیکل به‌صورت زیرجلدی در قاعده دم دریافت کردند و گروه کنترل (شش سر موش) که *PBS* دریافت کردند، تعیین و مقایسه شد. ازنظر زمان بروز زخم و وسعت ضایعات هم دو گروه باهم مقایسه شدند.

یافته‌ها: بروز زخم در موش‌های تحت تیمار نسبت به موش‌های کنترل با تأخیر معنی‌دار *(p<0. 02)* همراه بود و وسعت ضایعات ایجادشده در موش‌های دریافت‌کننده میکروپارتیکل کوچک‌تر بود. بار انگلی باوجوداینکه در موش‌های تحت تیمار کمتر بود ولی تفاوت آماری معنی‌دار بین گروه تست و کنترل دیده نشد *(P<0. 88)*.

بحث و نتیجه‌گیری: تلفیق دو روش بررسی ضایعه سنجش بار انگلی برآورد دقیق‌تر و صحیحی از وضعیت عفونت و پاسخ ایمنی ضد آن ارائه می‌دهد. اگرچه حذف انگل راه‌یافته به احشای تحت تأثیر تیمار با کیتین دیده نشد اما بروز زخم و وسعت ضایعات تحت تأثیر قرار گرفت. بررسی آثار ایمونوادجوانتی میکروپارتیکل‌های کیتین در مدل‌های عفونت لیشمانیایی نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

واژگان کلیدی: کیتین، لیشمانیا ماژور، بارانگلی

مقدمه

در حال حاضر انواع عفونت‌های ناشی از انگل لیشمانیا یک معضل بهداشت جهانی محسوب می‌شوند و به‌ویژه نوع جلدی عفونت در نقاط مختلف کشور ما شایع است. باوجود تلاش زیاد محققان، تاکنون واکسن یا درمان به‌طور کامل مؤثر و بدون عارضه‌ای برای لیشمانیازیس ارائه نشده است (۱) و تحقیق در این زمینه از اولویت‌های پژوهشی کشور است. در ادامه تحقیقات پیشین که نشان دادیم میکروپارتیکل‌های کیتینی کوچک اندازه – میکروپارتیکل‌های کیتین با اندازه کمتر از ۴۰ میکرون را میکروپارتیکل‌های کوچک می‌نامند– (۲)، قادر به مهار رشد انگل در ماکروفاژها در شرایط آزمایشگاهی هستند (۳)، همچنین واجد قابلیت تعدیل ایمنی و ایجاد گرایش به طرف پاسخ T_H1 درموش آلوده به لیشمانیا هستند(۴)، میکروپارتیکل‌های کیتینی بیش از میکروپارتیکل‌های کیتوزان پاسخ‌های ضد لیشمانیا را تحت تأثیر قرار می‌دهند (۵)، درصدد برآمدیم بار انگلی در غدد لنفی موش‌های آلوده به لیشمانیا ماژور و تحت درمان با میکروپارتیکل‌های کیتین را در مقایسه با موش‌های درمان نشده به‌وسیله روش مرجع تیتراسیون سلولی سنجیده، اثر ایمونوادجوانتی میکروپارتیکل‌های کیتین را دقیق‌تر ارزیابی کنیم.

در حال حاضر تحقیقات بسیاری در سراسر جهان پیرامون دارودرمانی و واکسیناسیون این عفونت انجام می‌شود که در بخش عمده آن‌ها از مدل‌های حیوانی برای بررسی اثربخشی داروهای جدید استفاده می‌کنند و آزمایش‌های مختلفی که در آن‌ها بار انگلی، درصد زنده‌بودن انگل، مرگ انگل، رشد انگل، بررسی زمان ظهور زخم و توسعه زخم، مبنای بررسی است، وجود داردکه ابزارکار محققان درپیگیری اثربخشی روش‌های درمانی وپیشگیری در برابر عفونت لیشمانیا هستند.(۶) از این میان روشی

نویسنده مسئول: مصطفی حاجی ملاحسینی، استادیار گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
تلفن/ فاکس: ۰۲۱-۲۲۴۳۹۹۷۰
موبایل: ۰۹۱۲۶۱۱۱۸۳۲
Email: m.mollahoseini@sbmu.ac.ir or hajimolahoseini@yahoo. com

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

که Titus و همکارانش به‌عنوان روشی برای مطالعه بارانگلی پایه‌گذاری کردند، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۷) و همچنان مرجع بسیاری از تحقیق‌هایی است که اثرگذاری روش‌های درمان و واکسیناسیون ضد لیشمانیا را در مدل‌های حیوانی کنکاش می‌کنند، بنابراین در این تحقیق از این راهکار برای بررسی اثر میکروپارتیکل‌های کیتین استفاده شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی و تزریق پروماستیگوت‌های انگل به موش و تیمار موش‌ها با میکروپارتیکل‌ها

مطابق تحقیق‌های قبلی میکروپارتیکل‌هایی از کیتین (C-7170 Sigma chemical Co.St,Louis,MO) تهیه شد (۵-۳).

از پروماستیگوت‌های انگل (سویه ایرانی MRHO/IR/75/ER) که در مرحله ایستایی قرار داشتند، سوسپانسیون انگلی به تعداد ۲×۱۰^{۵} در ۱۰۰ میکرولیتر بافرفسفات سالین تهیه و در قاعده دم موش‌های Balb/c ماده با سن پنج تا هفت هفته و به‌صورت داخل جلدی تزریق شد. ۱۲ سر موش Balb/cماده خالص با سن پنج تا هفت هفته به دو گروه (یک گروه کنترل و یک گروه تیمار) تقسیم شدند. گروه‌های تحت تیمار تا پایان هفته هشتم پس از تزریق انگل به‌صورت دو روز در میان با تزریق ۱۰۰ µg/µl میکروپارتیکل به‌صورت زیر جلدی در قاعده دم تیمار شدند و گروه کنترل ۱۰۰ میکرولیتر محلول PBS دریافت کرد. برای هریک از موش‌ها زمان ظهور ضایعه به‌صورت روزانه و وسعت ضایعات در پایان هفته هشتم ثبت شد و در پایان هم به روش تیتراسیون سلولی به شرح ذیل بار انگلی تعیین شد.

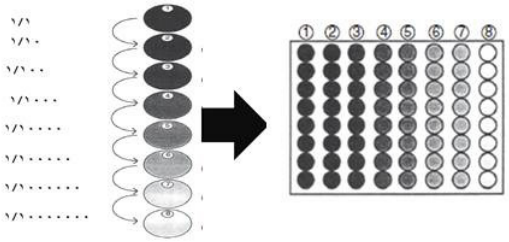
تعیین بار انگلی به روش تهیه رقت‌های متوالی

الف) تهیه سوسپانسیون سلولی از غدد لنفی موش آلوده به لیشمانیا:

موش‌های آلوده در پایان هفته هشتم پس از عفونت کشته شدند. گره‌های لنفاوی کشاله ران چپ و راست آن‌ها خارج و از آن‌ها سوسپانسیون سلولی تهیه شد. به این منظور گره‌های لنفی به پلیت استریل حاوی ۳ میلی لیتر محیط RPMI که روی یخ قرار گرفته منتقل شد تا متورم شده و از بافت چربی اطراف متمایز شود. سپس با تیغ جراحی بافت چربی از گره لنفی جدا شده، آنگاه برای جداسازی سلول‌ها گره لنفی روی صافی استریل غوطه‌ور در پلیت دیگر حاوی محیط کشت منتقل‌شده به‌آرامی له شد. سوسپانسیون سلولی حاصل با استفاده از محیط کشت و سانتریفیوژ یخچال‌دار شست‌وشو داده شد. در انتها پس از افزودن یک میلی لیتر محیط کشت به رسوب سلولی شسته شده، شمارش با لام نئوبار و تعیین درصد زنده‌بودن سلول‌ها با رنگ تریپان بلو انجام شد. به‌این‌ترتیب تعداد سلول‌های زنده برحسب $n\times10^{6}$ $^{cell}/_{ml}$ مشخص و حجم سوسپانسیون سلولی با استفاده از محیط کشت سلولی به ۲ میلی لیتر رسانده شد.

ب) رقیق‌سازی سوسپانسیون سلولی:

رقیق‌سازی سوسپانسیون سلولی هر یک از موش‌ها به‌طور جداگانه به‌این‌ترتیب انجام شد که رقیق‌سازی ۱۰ برابری (10-Fold) در ۸ میکرو تیوب انجام شد، به هریک از میکرو تیوب‌های شماره ۲ تا ۷، حجم ۱۸۰۰ میکرولیتر محیط کامل اشنایدر (S9895 Schneider insect medium, Sigma chemical Co.St,Louis,MO) اضافه کرده سپس از میکرو تیوب مبنا (شماره یک و حاوی $n\times10^{6}$ ^{cell}) ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی به لوله شماره دو اضافه کرده، خوب مخلوط شد و سوسپانسیونی با رقت ۱/۱۰ حاصل شد. از میکرو تیوب شماره ۲ ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون به لوله سوم منتقل شد و این فرآیند به‌صورت متوالی تا رقت ۱/۱۰۰۰۰۰۰۰ در میکرو تیوب ۷ ادامه یافت. به‌این‌ترتیب در ۸ میکرو تیوب سوسپانسیون سلولی از رقت ۱/۱ تا ۱/۱۰۰۰۰۰۰۰ در حجم ۱۸۰۰ میکرولیتر تهیه شد.



شکل ۱. نمای چگونگی رقیق‌سازی و توزیع ۸ تکرار از هر رقت سوسپانسیون سلولی در پلیت ۹۶ خانه

ج) توزیع سوسپانسیون سلولی:

پلیت ۹۶ خانه برای توزیع هشت تکرار از هریک از رقت‌ها مورداستفاده قرار گرفت و در هشت ستون که هر یک متشکل از هشت چاهک است، میزان ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون به هر چاهک اضافه شد. (شکل ۱)

بعد از ریختن سوسپانسیون در چاهک‌ها، در پلیت را بسته، اطراف آن را پارافین کشیده در داخل انکوباتور ۲۴ درجه، به مدت ۱۰ روز نگهداری کردیم. بعد از گذشت سه روز پلیت برای کنترل از انکوباتور خارج شده، زیر میکروسکوپ معکوس ازنظر حضور پروماستیگوت‌های زنده انگل و همچنین آلودگی بررسی شد. پس از ۱۰ روز پلیت برای ثبت اطلاعات بازبینی شد.

د) ثبت اطلاعات پلیت:

رویت چاهک‌ها از نخستین چاهک در نخستین ستون آغازشده و تمام سطح چاهک از بالا تا پایین و از چپ به راست بررسی شد. به‌محض دیدن پروماستیگوت‌های متحرک، علامت + در جدولی که معادل نمای پلیت بود ثبت و چاهک مجاور در ستون دوم در همان ردیف بررسی شد (شکل ۲). روش کار در این تکنیک به این صورت است که بعد از رسیدن به چاهکی که ازنظر حضور انگل منفی است، چاهک مجاورش نیز بررسی‌شده درصورتی‌که منفی باشد، نیازی به دیدن چاهک‌های بعدازآن نیست.

جهت خوانش پلیت

	Responding group											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
C	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
D	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
E	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
F	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
G	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
H	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

شکل ۲. جهت خوانش پلیت و چگونگی پر کردن جدول نما

اطلاعات جدول نما شامل:

۱) تعداد ستون‌های پاسخگو (Responding groups) یعنی ستون‌هایی که شامل هردو نمونه، نمونه مثبت منفی است (مانند ستون‌های ۸،۹ و ۱۰ در شکل ۲)

۲) تعداد چاهک‌های منفی مربوط به ستون‌های پاسخگو (چهار، شش و هفت چاهک منفی به ترتیب برای ستون ۸،۹ و ۱۰)

۳) تعداد سلول‌های مبنا برحسب $n\times۱۰^{۶}$

۴) تعداد سلول‌های مرتبط به هر یک از ستون‌های پاسخگو برحسب تعداد سلول موجود در چاهک

اطلاعاتی هستند که در آنالیز نیاز است. داده‌ها با نرم‌افزار ELIDA که بر مبنای روش آماری ارائه‌شده توسط Taswell کار می‌کند (۸) ارزیابی شد و تعداد انگل به ازای یک گره لنفاوی به‌دست آمد.

آنالیز آماری

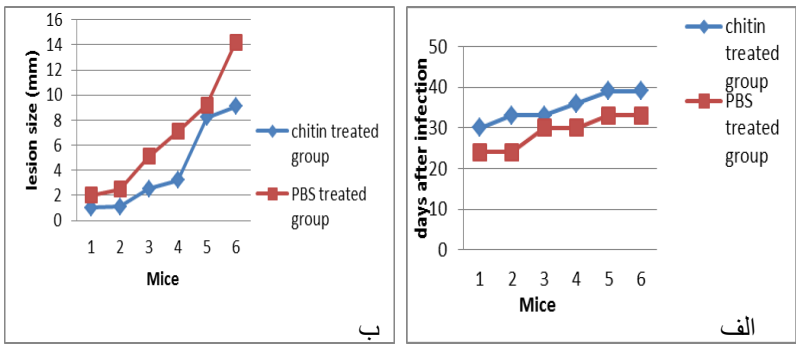
برای انتخاب آزمون آماری مناسب، ابتدا توزیع متغیر موردنظر در هر گروه ازنظر نرمال یا غیرنرمال بودن بررسی شد. برای تعیین نرمال یا غیرنرمال بودن نمونه ازنظر متغیر موردنظر، بر اساس نظر متخصص آمار، به علت کم بودن تعداد نمونه‌ها، آزمون Shapiro-Wilk به‌عنوان آزمون آماری مناسب، مبنا قرار گرفت. درصورتی‌که هر دو گروه متغیرهای موردنظر دارای توزیع نرمال بودند، از آزمون آماری t-test و درصورتی‌که هر دو دارای توزیع غیرنرمال بودند یا اینکه یکی دارای توزیع نرمال و دیگری دارای توزیع غیرنرمال بود، از آزمون آماری Mann-whitney U برای مقایسه استفاده و p value < 0. 05 معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تأخیر در بروز ضایعات در موش‌های تحت تیمار با میکروپارتیکل

شروع ضایعه با ایجاد یک برجستگی بدون زخم (ندول) بود. ثبت روز شروع ایجاد ندول نشان داد که موش‌های تحت درمان با میکروپارتیکل‌های کیتین

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

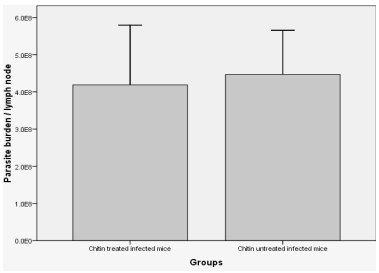


شکل ۳) زمان شروع ضایعه در هر موش بعد از تلقیح انگل (تصویر الف). زمان شروع ضایعه در موش‌های تحت تیمار از روز ۳۰ تا ۳۹ (متوسط ۳۵) و در گروه کنترل از روز ۲۴ تا ۳۳ (متوسط ۲۹) بعد از تلقیح انگل بود. وسعت ضایعه در هر موش و میانگین قطر ضایعات برحسب میلی‌متر (تصویر ب). میانگین اندازه ضایعات در موش‌های تحت درمان با میکروپارتیکل‌های کیتین (۱/۴ ± ۴/۱۸) و در گروه کنترل (۱/۸۷ ± ۶/۶۸) (p=۰. ۳۱) بود.

به‌طور متوسط در روز ۳۵ بعد از عفونت و موش‌های گروه کنترل در روز ۲۹ (شکل ۳ الف)، شروع به ایجاد ضایعه کردند که تفاوت آماری معنی‌داری را نشان می‌داد (p≤ 0. 02) . موش‌های آلوده‌ای که میکروپارتیکل‌های کیتین را دریافت کرده بودند، بعد از گذشت هشت هفته ضایعه کوچک‌تری ایجاد کردند. میانگین اندازه ضایعه در گروهی که میکروپارتیکل‌های کیتین را گرفته بودند، ۴/۱۸ میلی‌متر و در گروهی که PBS دریافت کرده بودند، ۶/۶۸ میلی‌متر بود (شکل ۳ ب).

عدم کاهش بار انگلی در موش‌های تحت تیمار با میکروپارتیکل

اگرچه میانگین تعداد انگل در گره‌های لنفاوی در هفته هشتم بعد از آلوده کردن موش‌ها، در گروه تحت تیمار با میکروپارتیکل‌های کیتین که تا آن زمان به‌صورت دو روز در میان تزریق میکروپارتیکل داشتند از میانگین تعداد انگل در موش‌های گروه کنترل کمتر بود (شکل ۴)، ولی این تفاوت به لحاظ آماری (0/8>P) معنی‌دار و ازنظر کلینیکی هم اهمیت ندارد.



شکل ۴) میانگین بار انگلی گروه موش‌های آلوده دریافت‌کننده میکروپارتیکل‌های کیتین (۱/۶×۱۰^۸ ± ۱۹/×۱۰^۸ ۴ به ازای یک گره لنفاوی) در مقابل گروه شاهد (۱/۱۹×۱۰^۸ ± ۴۸/×۱۰^۸ ۴) در زمان هشت هفته بعد از تلقیح انگل. اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه تا هفته هشتم دیده نمی‌شود (0/8>P)

بحث

نتایج این تحقیق نشان داده تیمار با میکروپارتیکل‌های کیتین سبب به تعویق انداختن شروع ضایعات لیشمانیایی و کاهش اندازه ضایعات شده اما سبب کاهش معنی‌دار بار انگلی در مدل موشی عفونت لیشمانیا ماژور نمی‌شوند. موش‌های تحت تیمار، ازنظر زمان شروع ضایعه تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشتند. وسعت زخم اگرچه به‌طور متوسط در گروه تیمار ۲/۵ میلی‌متر کوچک‌تر از گروه کنترل بود و این میزان ازنظر تجربی و بالینی حائز اهمیت است، ولی ازنظر آماری تفاوت معنی‌دار نشد که به نظر نمی‌رسد با افزایش حجم نمونه معنی‌داری آماری هم حاصل شود. سنجش بار انگلی نشان داده در غدد لنفی موش‌هایی که تیمار هشت‌هفته‌ای با میکروپارتیکل‌ها داشتند، کاهش معنی‌داری ازنظر تعداد انگل چه به لحاظ آماری و چه از دیدگاه بالینی ایجادنشده است. این نتایج اثبات می‌کند که رصد ضایعه لیشمانیایی که در ایران مبنای مطالعات مختلفی قرار گرفته است (۱۱-۹) به تنهایی روش دقیقی برای ارزیابی پاسخ ایمنی به عفونت نیست. با توجه به اینکه بروز، ظهور و وسعت ضایعه لیشمانیایی تحت تأثیر عوامل متعددی قرار می‌گیرد (۶) بنابراین افزایش یا کاهش وسعت ضایعه معیار مناسبی در بررسی پاسخ به درمان نمی‌تواند باشد و چه‌بسا موجب تفاسیر نادرست از پیشرفت بیماری شود. ضایعه ممکن است در غیاب انگل رویت شود یا باوجود انگل ضایعه دیده نشود (۱۳-۱۲)، بنابراین در عفونت لیشمانیا وسعت ضایعه با تعداد انگل زنده در بافت همواره رابطه معنی‌دار ندارند، بنابراین تلفیق دو روش بررسی ضایعه و سنجش بار انگلی برآورد دقیق‌تر صحیحی از وضعیت عفونت ارائه می‌کند.

با توجه به نتایج تحقیق‌های قبلی ما که در شرایط آزمایشگاهی اثر ضد لیشمانیایی میکروپارتیکل‌های کیتین را نشان می‌دهد (۳) و تحقیق دیگری که نشان داد که در پایان هفته دوم بعد از تلقیح انگل، افزایش میانگین غلظت IFN-γ و کاهش میانگین IL-5 در موش‌های آلوده دریافت‌کننده میکرو پارتیکل‌های کیتین، در مقایسه با موش‌هایی آلوده گروه کنترل وجود دارد، به‌طوری‌که نسبت IFN-γ به IL-5 در موش‌های آلوده و دریافت‌کننده میکرو پارتیکل‌های کیتین، به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل است، بنابراین پاسخ‌ها به سمت T_H1 گرایش دارد (۴) و همچنین با استناد به تحقیق‌های دیگران درزمینه میکروپارتیکل‌های کیتین ازجمله نتایجی که Shibata و همکارانش در دانشگاه کارولینای شرقی گزارش کرده‌اند (۱۴) یا strong و همکارانش در مدل‌های موشی آلرژی (۱۵) یا Baaten و همکاران در موش‌های آلوده‌شده با ویروس آنفلوآنزا تیپ A عنوان می‌کنند (۱۶)، به نظر می‌رسد میکروپارتیکل‌های کیتین واجد خاصیت ایمونوادجوانتی در عفونت لیشمانیا باشند، اگرچه با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد به تنهایی نقشی در بهبود عفونت لیشمانیا نداشته باشند. برای بررسی آثار ایمونوادجوانتی میکروپارتیکل‌های کیتین، انجام مطالعه‌ای دیگر که در آن الگوی تیمار موش‌ها تغییر کرده، به صورتی که تزریق میکروپارتیکل‌ها تا پایان هفته دوم – مرحله حساس شدن سیستم ایمنی (Sensitization Phase) – ادامه یابد و آنگاه متوقف شود و حیوانات در پایان هفته هشتم یا بیشتر ازنظر بار انگلی و تولید سایتوکاین‌ها بررسی شوند، پیشنهاد می‌شود. همچنین می‌توان قابلیت ایمونوادجوانتی کیتین را در همراهی با آنتی‌ژن‌های کاندید واکسن ارزیابی کرد. علاوه بر این با توجه به نتیجه این تحقیق که نشان می‌دهد ذرات کیتین موجب تقویت عفونت‌زایی انگل لیشمانیا نمی‌شوند می‌توان از کیتین و مشتقات آن در غالب میکروپارتیکل و نانو پارتیکل به‌عنوان ناقل داروهای رایج ضد لیشمانیا استفاده کرد.

ازجمله معضلات برای انجام آزمایش بررسی بارانگلی نبود دسترسی به نرم‌افزار ELIDA است. به‌علاوه اینکه این نرم‌افزار با سیستم‌های عامل جدید سازگار نیست و شاید به همین دلایل محققان به گزارش زمان بروز ضایعه و وسعت زخم بسنده می‌کنند، بنابراین پیشنهاد می‌شود محققان با استفاده از روش ارائه‌شده در این مقاله از نرم‌افزار مشابهی بانام Leishmania LDA که تحت وب به آدرس http://www.imperial.ac.uk/theoriticalimmunology/llda وجود دارد برای آنالیز نتایج استفاده کنند، با این تفاوت که باید برای حصول نتایج دقیق ۱۶ تکرار از هریک از رقت‌ها را داشت. بنابراین سوسپانسیون سلولی در دو پلیت توزیع شود. نرم‌افزار اخیر به ادعای مولفان آن می‌تواند تعداد انگل در یک سلول را تعیین کند. همچنین اگر به جای سلول از بافت برای تهیه سوسپانسیون استفاده‌شده باشد، تعداد انگل دریک نانوگرم بافت را محاسبه کند.(۶)

تشکر و قدردانی: این تحقیق بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد ایمونولوژی خانم سمیه قتلو بود که با حمایت مالی دانشکده پزشکی در قالب طرح پژوهشی شماره ۱۳/۲۷۰ انجام شد. از حمایت‌های معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی صمیمانه سپاسگزاریم.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]

منـابع

1. McGwire BS, Satoskar AR. Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment. QJM, 2014;107 (1): 7-14.

2. Da Silva CA, Chalouni C, Williams A, Hartl D, Lee CG, Elias JA. Chitin is a size-dependent regulator of macrophage TNF and IL-10 production. J Immunol. 2009; 182 (6): 3573-82.

3. Dehghani F, Haji Molla Hoseini M, Memarnejadian A, Yeganeh F, Rezaie AM, Khaze V. Immunomodulatory activities of chitin microparticles on Leishmania major-infected murine macrophages. Arch Med Res. 2011; 42 (7): 572-6.

4. Ghotloo S, Haji Molla Hoseini M, Alimohammadian MH, Khaze V, Memarnejadian A, Rostami A. Immunomodulatory effects of chitin microparticles on Leishmania major-infected BALB/c mice. Parasitol Int. 2015; 64 (2): 219-21.

5. Moradi M, Alimohammadian M, Yeganeh F, Khaze V, Haji Molla Hoseini M. Comparison of immune modulating effects of chitin microparticles with chitosan microparticles on leishmania infected lymph nodes cell suspensions of the mice. Pejouhesh. 2014; 38 (1): 19-24

6. KropfP, Kadolsky UD, Rogers M, Cloke TE, Müller L. The Leishmaniasis Model. Method in microbiology,2010;37: 307-28.

7. Titus RG, Marchand M, Boon T, Louis JA. A limiting dilution assay for quantifying Leishmania major in tissues of infected mice. Parasite Immunol. 1985;7: 545–555.

8. Eskandari F, Alipour Talesh G, Parooie M, Jaafari MZ, Khamesipour A, Saberi Z,et al.
Immunoliposomes containing Soluble Leishmania Antigens (SLA) as a novel antigen delivery system in murine model of leishmaniasis. Experimental Parasitology,2014;146: 78–86

9. Ghasemi F, Nahrevanian H Application of L-Arginine as nitric oxide inducer and Indomethacin as prostaglandin inhibitor in Balb/c mice infected with Leishmania major MRHO/IR/75/ER. 1J Army Univ Med Sci. 2013; (1): 1-10

10. hmadi K, mahmoud zade A, cheraghali A, esfahani A. Effect of Garlic extract on cutaneous Leishmaniasis and the role of Nitric Oxide. J Shahrekord Univ Med Sci. 2002; 4 (2): 1-7

11. Tolouei S, Hasheminia S, Narimani M, Khamesipour A, Shatalebi M, Hejazi Sh. Leishmanicidal Activity of Films Containing Paromomycin and Gentamicin Sulfate both In Vitro and In Vivo. Iran J Parasitol. 2011;6: 60-5.

12. Vieira LQ, GoldschmidtM, Nashleanas M, Pfeffer K, Mak T. ScottP. Mice lacking the TNF receptor p55 fail to resolve lesions caused by infection with Leishmania major, but control parasite replication. J. Immunol,1996; 157: 827–35.

13. Lima HC, Bleyenberg J A, Titus RG. A simple method for quantifying Leishmania in tissues of infected animals. Parasitol. Today,1997; 13: 80–2.

14. Shibata Y, Foster LA, Bradfield JF, Myrvik QN. Oral administration of chitin down-regulates serum IgE levels and lung eosinophilia in the allergic mouse. J Immunol. 2000;164 (3): 1314-21.

15. Strong P, Clark H, Reid K. Intranasal application of chitin microparticles down-regulates symptoms of allergic hypersensitivity to Dermatophagoides pteronyssinus and Aspergillus fumigatus in murine models of allergy. Clin Exp Allergy. 2002;32 (12): 1794-800.

16. Baaten BJ, Clarke B, Strong P, Hou S. Nasal mucosal administration of chitin microparticles boosts innate immunity against influenza A virus in the local pulmonary tissue. Vaccine. 2010;28 (25): 4130-7

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-24]